

**CARRIER FOR ADSORBING PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE****Publication number:** JP6329557**Publication date:** 1994-11-29**Inventor:** ODA MUNEHIRO; YOKOYAMA MINEHIKO; IKEGAMI  
HIDEJI; SAKUMA SADATOSHI; ITO HIROYUKI**Applicant:** MEIJI MILK PROD CO LTD**Classification:****- international:** **A61K9/107; A61K47/02; A61K9/107; A61K47/02;**  
(IPC1-7): A61K47/02; A61K9/107**- European:****Application number:** JP19930120015 19930521**Priority number(s):** JP19930120015 19930521**Report a data error here****Abstract of JP6329557**

**PURPOSE:** To obtain a carrier for adsorbing a physiologically active substance composed of fine particles of hydroxyapatite having the surface treated with albumin and/or a polyvalent organic acid.

**CONSTITUTION:** The carrier for adsorbing a physiologically active substance contains fine particles of hydroxyapatite, having the surface treated with albumin (e.g. human blood serum albumin) and/or a polyvalent organic acid (e.g. citric acid) and having preferably  $\leq 500\text{nm}$ , more preferably  $\leq 100\text{nm}$  average particle diameter. The resultant carrier for adsorbing the physiologically active substance is good in dispersion stability without flocculating even in preservation thereof in an aqueous suspension for a long period. When saccharides (e.g. mannose) or amino acids (e.g. arginine) are added, the stability is preferably further improved. Side effects such as vascular emphraxis can be suppressed by adsorbing the substance on the hydroxyapatite. Since the adsorptivity of the physiologically active substance is high, a medicinal preparation having high effectiveness and safety can be obtained.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

B5

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-329557

(43) 公開日 平成6年(1994)11月29日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 47/02	B	7433-4C		
9/107	F	9455-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願平5-120015

(22) 出願日 平成5年(1993)5月21日

(71) 出願人 000006138

明治乳業株式会社

東京都中央区京橋2丁目3番6号

(72) 発明者 小田 宗宏

神奈川県小田原市成田540番地 明治乳業  
細胞工学センター内

(72) 発明者 横山 峰彦

神奈川県小田原市成田540番地 明治乳業  
細胞工学センター内

(72) 発明者 池上 秀二

神奈川県小田原市成田540番地 明治乳業  
細胞工学センター内

(74) 代理人 弁理士 有賀 三幸 (外3名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生理活性物質吸着用担体

(57) 【要約】

【構成】 アルブミン及び／又は多価有機酸で表面処理された、500nm以下の平均粒径を有するヒドロキシアパタイト微粒子よりなる生理活性物質吸着用担体及び当該担体に生理活性物質を吸着してなる医薬製剤。

【効果】 本発明の担体は、HA微粒子が凝集することなく分散安定性が良好であるため、血管閉塞などの副作用がない。また、生理活性物質の吸着能も高いので、当該担体に生理活性物質を吸着させれば、有効性及び安全性の高い医薬製剤が得られる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 アルブミン及び／又は多価有機酸で表面処理された、500nm以下の平均粒径を有するヒドロキシアパタイト微粒子よりなる生理活性物質吸着用担体。

【請求項2】 生理活性物質を吸着し、かつアルブミン及び／又は多価有機酸で表面処理された、500nm以下の平均粒径を有するヒドロキシアパタイト微粒子を含有する医薬製剤。

【請求項3】 さらに糖類又はアミノ酸類を含有する請求項2記載の医薬製剤。

【請求項4】 500nm以下の平均粒径を有するヒドロキシアパタイト微粒子をアルブミン及び／又は多価有機酸で表面処理することを特徴とするヒドロキシアパタイト微粒子分散液の安定化方法。

【請求項5】 さらに糖類又はアミノ酸類を添加することを特徴とする請求項4記載の安定化方法。

【請求項6】 ヒドロキシアパタイト微粒子が、生理活性物質を吸着しているものである請求項4又は5記載の安定化方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は生理活性物質吸着用担体及び当該担体に生理活性物質を吸着させてなる医薬製剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】種々の疾病の治療において、薬剤を必要ときに必要な量を必要な部位に送達することは、薬剤の有効性と安全性の両者を満足させるうえで重要である。そのため薬剤の放出制御や標的指向を求めて種々の方法が考案されている。そのうち、生体親和性の高い担体に薬剤を吸着させ、徐々に放出させる技術は、ドラッグデリバリーシステム(DDS)の一手段としてよく知られている。

【0003】ところでヒドロキシアパタイトは、骨や歯の成分と同じであり、生体親和性が高いことから医療材料として広く使用されている。そして、最近、このヒドロキシアパタイトの30~50μmの粒子に制ガン剤を吸着させて投与する試みがなされている。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、この制ガン剤の担体に用いたヒドロキシアパタイトは、粒径が30~50μmと大きく、ヒトに投与すると毛細血管を閉塞させてしまうため、血管内投与はできなかった。この欠点を克服するには、ヒドロキシアパタイトを微粒子化すればよいと考えられるが、毛細血管閉塞を生起しない粒径までヒドロキシアパタイトを微粒子化すると、得られた微粒子は極めて凝集し易く、分散安定性が悪いため、医薬の担体としては使用できないことが判明した。従って、本発明の目的は生体親和性が高く、分散安定性

が良好で、血管内投与も可能な生理活性物質吸着用担体、及びこれを用いた医薬製剤を提供することにある。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】そこで本発明者らは、ヒドロキシアパタイト微粒子と分散安定性との関係、この微粒子への生理活性物質の吸着性、生理活性物質吸着ヒドロキシアパタイト微粒子の安全性及びその有効性について種々検討した結果、500nm以下に微粒子化されたヒドロキシアパタイトはその表面をアルブミン及び／又は多価有機酸で処理すれば、凝集せず、分散安定性が良好であり、粒径が小さいので静脈注射も可能であること；さらに当該表面処理ヒドロキシアパタイトに生理活性物質が吸着された微粒子は有効性及び安全性が高く注射用医薬製剤として優れていることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0006】すなわち、本発明はアルブミン及び／又は多価有機酸で表面処理された、500nm以下の平均粒径を有するヒドロキシアパタイト微粒子よりなる生理活性物質吸着用担体を提供するものである。

20 【0007】また、本発明は生理活性物質を吸着し、かつアルブミン及び／又は多価有機酸で表面処理された、500nm以下の平均粒径を有するヒドロキシアパタイト微粒子を含有する注射用医薬製剤を提供するものである。

【0008】さらに本発明は500nm以下の平均粒径を有するヒドロキシアパタイト微粒子をアルブミン及び／又は多価有機酸で表面処理することを特徴とするヒドロキシアパタイト微粒子分散液の安定化方法を提供するものである。

30 【0009】本発明の生理活性物質吸着用担体に用いるヒドロキシアパタイト(以下「HA」と略す)微粒子の平均粒径は500nm以下である。平均粒径が500nmを超えると血管内に投与したとき血管を閉塞させるおそれがあり、好ましくない。より好ましいHA微粒子の平均粒径は100nm以下である。このようなHA微粒子は、例えば粒径の大きなHAを超音波処理又はナノマイザー処理することにより調製される。このうち、ナノマイザー処理による微粒子化が特に好ましい。

40 【0010】HA微粒子の表面処理に用いられるアルブミンとしてはヒト血清アルブミンが好ましい。また多価有機酸としては、クエン酸、ポリ乳酸、ポリグルタミン酸等が挙げられ、このうちクエン酸が特に好ましい。

【0011】HA微粒子の表面処理は、HAの微粒子化処理と同時に進めてもよく、また微粒子化後でもよく、さらに生理活性物質吸着後でもよい。また、表面処理手段としては、特に制限されず、アルブミン及び／又は多価有機酸含有液にHA微粒子を浸漬する方法、浸漬後攪拌する方法、浸漬してナノマイザー処理又は超音波処理する方法等が挙げられる。ここで用いるアルブミン及び／又は多価有機酸の量は、特に制限されないが、アルブ

ミンの場合は重量比でHA微粒子の1/20以上が好ましい。

【0012】かくして得られた生理活性物質吸着用担体は、水懸濁液中で長期間保存しても凝集せず、分散安定性が良好であるが、当該懸濁液中に糖類、アミノ酸等の安定化剤を添加すると、さらに安定性が向上する。安定化剤としての糖類としてはマンノース、ガラクトース、ショ糖等の単糖、二糖、糖アルコールが好ましい。また、アミノ酸としては、アルギニン、グリシン等が挙げられる。安定化剤の濃度は特に制限されないが、0.0

001~20重量%程度が好ましい。  
【0013】本発明の担体に吸着させることのできる生理活性物質は特に制限されず、各種医薬品の薬効成分、例えば生理活性ペプチド、抗ガン剤、抗体、抗HIV剤、抗リウマチ剤、鎮痛剤、各種免疫原性物質等が挙げられる。また、抗原などを吸着させたバイオアッセイ材料(キット)としての使用も可能である。

【0014】前記担体への生理活性物質の吸着方法としては、特に限定されず、吸着あるいはカルシウム結合蛋白等の各種架橋剤を介した化学的吸着のいずれでもよい。また前記担体への生理活性物質の吸着はHA微粒子の表面処理前、表面処理後のいずれでもよい。アルブミン表面処理の場合は、表面処理前に吸着しておくのが好ましく、多価有機酸表面処理の場合は、吸着処理は表面処理の前でも後でもよい。

\*

	HSA			ゼラチン		
	0.5mg/ml	1.5mg/ml	4.5mg/ml	0.5mg/ml	1.5mg/ml	4.5mg/ml
平均粒径(μm)	0.06	0.07	0.06	0.78	0.96	0.90

【0020】表1より、HSAを添加した場合、いずれの添加量でも平均粒径100nm以下であり、凝集が生起せず良好な分散性を示した。一方、ゼラチンを添加した場合、いずれの添加量でも凝集し、約80%が500nm以上であった。

#### 【0021】実施例2

HA最終濃度10mg/mlの条件下で、HA水懸濁液を1分間超音波処理し、HSAを加えてさらに1分間超音波処理し、分散、安定化に必要なHSAの最終濃度を検討した。結果を表2に示す。

#### 【0022】

#### 【表2】

HSA濃度(mg/ml)	平均粒径(nm)
0	3655
0.25	275
0.5	68
1	66
2	67
4	73
8	68

【0023】表2より、HSAはHAに対し重量比で1/20以上あれば十分な分散、安定化作用を示すことが判明した。

#### 【0024】実施例3

種々の酸を含有する媒体にHA(最終濃度7.4mg/ml)を室温下、1000kPa/cm<sup>2</sup>で5回ナノマイザー処理し、その分散性を検討した。媒体としては水(pH無調整)、硝酸(pH4.5の希硝酸)、酢酸(NaOHでpH4.5に調整)、コハク酸(NaOHでpH4.5に調整)、及びクエン酸(NaOHでpH4.5に調整)を用

\*【0015】得られた生理活性物質吸着HA微粒子は、凝集せず、分散安定性が良好なうえ、生理活性物質を徐々に放出するので、生理活性物質の血中濃度のコントロールが容易であり、有効性及び安全性も高い医薬品として有用である。この医薬品は、静脈内投与しても毛細血管の閉塞を起こすことがなく、注射用として特に優れている。

#### 【0016】

【実施例】次に実施例を挙げて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれにより何ら制限されるものではない。

#### 【0017】実施例1

(1)表面処理用タンパク質として、ヒト血清アルブミン(以下、HSA)及び低分子化したゼラチンを用い、最終濃度は0.5mg/ml、1.5mg/ml及び4.5mg/ml(いずれも水溶液)とした。微粒子化は、水に懸濁したHA(セントラル硝子、最終濃度1mg/ml)に表面処理剤を加え、室温下、1000kPa/cm<sup>2</sup>で5回ナノマイザー処理(ナノマイザー株式会社製)を行った。

【0018】得られた表面処理HA微粒子の分散状況を粒度分布測定装置(島津製作所製)を用いて測定し、平均粒径を求めた。分散に及ぼす表面処理剤の種類の影響を表1に示す。

#### 【0019】

#### 【表1】

いた。結果を表3に示した。

【0025】

\*【表3】

\*

媒体	平均粒径 (nm)	
	pH 4	pH 5
水 (pH無調整)	(3569)	
硝酸	4591	4508
酢酸	4585	4486
コハク酸	4906	3485
クエン酸	244	50

【0026】表3より、無機酸や1価の有機酸ではHAの分散・安定化作用はなかったが、クエン酸のような多価有機酸には優れたHA分散・安定化作用が認められた。

【0027】実施例4

HSA表面処理HA微粒子分散液の保存安定性を検討した。0.5～4.5mg/mlのHSA存在下にHA水懸濁液（最終濃度1mg/ml）を室温下、1000kg/cm<sup>2</sup>で5回ナノマイザー処理して得たHA分散液を4℃、3週※

※間静置後の安定性を調べた。なお各種添加剤の影響も同時に比較した。添加剤（最終濃度0.9%）としてマンノース（MAN）、ガラクトース（GAL）、ショ糖（SUC）、アルギニン（ARG）、グリシン（GLY）を用いた。結果を表4に示す。なお、表4中の数字は平均粒径（μm）を示す。

【0028】

【表4】

分散液の保存安定性（4℃、3週間）

HSA (mg/ml) \ 添加剤						
	—	MAN	GAL	SUC	ARG	GLY
0.5	0.06	0.07	0.07	0.07	0.35	0.12
1.5	0.07	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07
4.5	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07

【0029】実施例5

30★（μm）を示す。

実施例4で得られたHA分散液の凍結乾燥後の安定性を調べた。結果を表5に示す。表5中の数字は平均粒径

【0030】

★【表5】

凍結乾燥後の安定性（乾燥2日後）

HSA (mg/ml) \ 添加剤						
	—	MAN	GAL	SUC	ARG	GLY
0.5	0.59	0.07	0.07	0.07	0.16	0.63
1.5	0.14	0.06	0.06	0.06	0.07	0.07
4.5	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	0.07

【0031】表5より本発明表面処理HA微粒子は凍結乾燥しても安定であるが、表面処理剤濃度が低い場合は凝集が認められた。ただし、この場合は安定化剤の添加により凝集を抑制できた。

【0032】実施例6

HA20mg/0.5mlにパーオキシダーゼ結合抗体（HBS抗原測定用パーオキシダーゼ結合マウスモノクローナル抗体、アボット社）100μlを加え、超音波処理

を20秒間行った。その後4℃にて5時間吸着させた後、HSA1.5mg/mlを加え、再度超音波処理を20秒間行った。ついでHA微粒子を遠心回収した。このHAを水で5回洗浄し、水に再懸濁した。この懸濁液を二分割し、一部はそのまま酵素反応の試料とし、一部は遠心分離に付し上清を得た。試料及び遠心上清にパーオキシダーゼの基質を添加し酵素反応を行わせた。その結果、試料では明らかな酵素反応が認められたが、遠心上

清では全く酵素反応が認められなかった。したがって、パーオキシダーゼ結合マウスモノクローナル抗体はその活性を保持したままHAに吸着していることが確認されたとともに、一旦吸着した活性物質の遊離がないことも示された。

#### 【0033】実施例7

クエン酸緩衝液にHAを懸濁(10mg/ml)し、1000kq/cm<sup>2</sup>で5回ナノマイザー処理したHA微粒子を一旦水洗浄した後、水に再懸濁した。酵母由来RNAを添加し、一夜4℃で吸着させ、遠心上清中のRNA量(OD260)を測定した。その結果、表6に示すように、吸着量は2群と3群の吸光度差に相当し、RNAが十分に吸着していることがわかる。

#### 【0034】

##### 【表6】

系	OD
1群 HA 10mg/ml, RNAなし	0.012
2群 HA 10mg/ml, RNAあり	0.181
3群 HA なし, RNAあり	0.797

#### 【0035】実施例8

下記粒径分布を有するHAを作製し安全性を比較検討した。

##### (1) 試料

表7に示す粒径分布を有するサンプルN及び表8に示す粒径分布を有するサンプルPを用いた。サンプルNはHA 7.4mg/ml(最終濃度)にHSA 1.5mg/mlを添加し、1000kq/cm<sup>2</sup>で5回ナノマイザー処理したものであり、サンプルPはHA 10.6mg/ml(最終濃度)にHSA 2mg/ml(水溶液)を添加し、ポリトロン(KINEMATICA, スイス)で9分間処理したものである。

#### 【0036】

##### 【表7】

##### サンプルNの粒度分布

粒径(nm)	相対割合(%)
150-100	1.1
100-80	8.2
80-60	44.1
60-50	30.2
50以下	16.5

40

\*

群名	死亡マウス/全マウス(day7)	群名	死亡マウス/全マウス(day7)
N-1	0/5	P-1	0/5
N-2	0/5	P-2	0/5
N-3	0/5	P-3	5/5
N-4	0/5	P-4	5/5
N-5	0/5		

#### \*【0037】

##### 【表8】

##### サンプルPの粒度分布

粒径(nm)	相対割合(%)
3000-2000	0.6
2000-1500	1.3
1500-1000	4.9
1000-800	10.6
800-600	28.4
600-500	15.6
500-400	13.0
400-300	9.2
300以下	16.4

【0038】(2) 動物: ddYマウス、6週令、雌を用い、一群5匹とした。

【0039】(3) 群名及び投与量(mgHA/mouse)は表9の通りである。

#### 【0040】

##### 20 【表9】

群名	サンプルN	群名	サンプルP
N-1	0.74	P-1	1.48
N-2	1.48	P-2	2.11
N-3	3.7	P-3	2.64
N-4	5.18	P-4	3.7
N-5	7.4		

#### 【0041】(4) 投与

投与は尾静脈投与とし、一回のみの投与とした。

#### 【0042】(5) 結果

投与後一週間の生存マウス数を表10に示した。生存マウスのほとんどが正常マウスと同様な行動を示していた。

#### 【0043】

##### 【表10】

【0044】以上の結果から、本発明の表面処理を行うことにより、明らかに安全性が向上することが分る。サンプルNでは、7.4mq静脈内投与しても全てのマウスが生存しており、LD<sub>50</sub>は250mq/kg以上であった。サンプルPのLD<sub>50</sub>は70-90mq/kg程度であった。死亡する場合は投与直後であり、血管閉塞を起こすためと考えられる。分散・安定化された本発明微粒子担体の安全性は高いものであった。

#### 【0045】実施例9

マウスCD4、CD8に対するラット抗体をマウスに投与したのち、末梢血リンパ球、リンパ節、脾臓を採取し、これらの臓器中のリンパ球亜集団の割合を調べることにより、薬剤のターゲティングを検討した。使用した抗体（及び対照）は以下に示すものである。

ラット抗体：抗マウスCD4抗体

抗マウスCD8抗体

ラット血清Ig

#### 【0046】a) HA吸着抗体の調製

HA水懸濁液（最終5mq/ml）に抗体を添加（抗体最終濃度は1mq/ml）し、実施例1と同様にしてナノマイザーで分散処理を行う。4℃で一夜吸着させた後、遠心分離でHAを回収するとともに未吸着抗体を除去する。HSAを添加（0.5mq/ml）したのち、再度分散処理を\*

\*し試料を調製した。遠心上清の抗体量を測定し、吸着抗体量も把握した。なお、吸着率は以下の通りであった。

抗マウスCD4抗体：75.4%

抗マウスCD8抗体：63.8%

ラット血清Ig：66.0%

b) マウス：C57BL/6マウス（6週令、雌、1群3匹）

c) 投与：連続2回、眼底静脈より0.1ml投与

総投与量：抗マウスCD4抗体：151μg/mouse

e

抗マウスCD8抗体：128μg/mouse

ラット血清Ig：132μg/mouse

抗体単独投与群の投与量は、吸着量より算出して同量とした。

d) 測定：2回投与、3日後に、末梢血リンパ球、リンパ節、脾臓を採取し、これらの臓器中のリンパ球を抗CD4抗体、抗CD8抗体で染色し、FACSで2カラー解析を行い、リンパ球亜集団の割合を測定した。

#### 【0047】e) 結果

リンパ球亜集団の割合を測定した結果を表11～表13に示す。

#### 【0048】

【表11】

脾臓中のリンパ球亜集団の割合（%）

	CD4+	CD8+	CD4-CD8-	CD4+CD8+
無処置	23.98	15.63	59.69	0.7
ラット血清Ig	26.91	15.98	56.3	0.8
ラット血清Ig-HA	22.34	13.88	62.77	1.01
抗マウスCD4抗体	4.05	17.68	76.86	1.42
抗マウスCD4抗体-HA	5.58	15.73	77.78	0.91
抗マウスCD8抗体	19.96	0.18	79.38	0.48
抗マウスCD8抗体-HA	23.49	0.26	75.94	0.32

#### 【0049】

※ ※【表12】

リンパ節中のリンパ球亜集団の割合（%）

	CD4+	CD8+	CD4-CD8-	CD4+CD8+
無処置	38.2	26.95	34.02	0.84
ラット血清Ig	40.09	27.75	31.32	0.85
ラット血清Ig-HA	38.47	26.91	33.56	1.06
抗マウスCD4抗体	4.9	41.58	52.14	1.38
抗マウスCD4抗体-HA	8.19	39.4	50.69	1.71
抗マウスCD8抗体	47.46	0.2	51.64	0.7
抗マウスCD8抗体-HA	48.23	0.37	50.74	0.67

#### 【0050】

【表13】

## 末梢血リンパ球中のリンパ球亜集団の割合 (%)

	CD4+	CD8+	CD4-CD8-	CD4+CD8+
無処置	29.24	15.12	55.25	0.39
ラット血清Ig	27.77	14.35	57.57	0.31
ラット血清Ig-HA	29.44	15.09	55.1	0.36
抗マウスCD4抗体	2.16	18.01	79.57	0.26
抗マウスCD4抗体-HA	4.58	21.35	73.8	0.27
抗マウスCD8抗体	25.5	0.23	74.01	0.26
抗マウスCD8抗体-HA	31.23	0.17	68.53	0.08

【0051】投与後のリンパ球亜集団変化を見ると、HA吸着抗体投与群、抗体単独投与群ともに抗体が目的の部位に到達していることがわかる。しかし、HA吸着抗体投与群の成績が抗体単独投与群の成績と比較し、より正常マウスの成績に近い。このことは、HAに異種タンパク質を吸着させて投与した場合と遊離の状態で投与した場合では生体に及ぼす影響が異なることを示しており、ターゲティングがより正確に行われていることを反映している。

## 【0052】実施例10

実施例9の試験結果から、ターゲティングの可能性が示されたことから、ターゲティングによる実験動物腫瘍の治療実験を行った。ターゲティングにはラット抗体（抗マウスIL-2レセプター抗体）を、治療の目的にはNCSを用いた。なお、アドリアマイシンなどの制癌剤は単独でHAに吸着させることができるが、NCSは単独ではHAに吸着しない。そこで10残基のアミノ酸からなるカルシウム結合ペプチド（Asp-Leu-Asp-Glu-Asp-Val-Ser-Gln-Glu-Cys、以下CBPという）を合成し、それにマレイミド法でNCSを結合してHAに吸着できる複合化合物を作製して用いた。

## \*【0053】a) HA吸着抗体の調製

HA水懸濁液（5mg/ml）に抗体（最終濃度250μg/ml）及びCBP-NCS（最終濃度50μg/ml）を添加し、1000kq/cm<sup>2</sup>で3回ナノマイザー処理を行った。4℃で一夜吸着させた後、遠心分離でHAを回収するとともに未吸着物質を除去した。HSAを添加（0.5mg/ml）したのち、さらに2回1000kq/cm<sup>2</sup>でナノマイザー処理をし試料を調製した。最終的に得られた試料の組成は以下の通りである。

20 HA : 2.68mg/ml

CBP-NCS : 26.8μg/ml

ラット抗体 : 134μg/ml

b) マウス: BALB/cマウス（6週令、雌、1群5匹）

c) 腫瘍細胞: IL-2 Receptorを発現している白血病細胞BALBRV 4をip移植した（day 0）。

d) 投与量、投与経路及び投与回数: day 1, day 3の2回、表14に示す投与量でip投与した。なお、

30 NCS単独の場合は他の実験群の3倍量を投与した。

## 【0054】

\* 【表14】

群名	投 与 量
1群	HA 0.27mg, CBP-NCS 2.7μg, Ab 13.4μg/shot
2群	CBP-NCS 2.7μg, Ab 13.4μg/shot
3群	NCS 8.1μg/shot
4群	生理食塩水

## 【0055】e) 結果

結果を図1に示す。その結果対照群と比較し、いずれの薬剤投与群でも延命効果が認められた。抗体、NCS混合物投与群では、いずれも50%程度の延命効果が認められた。HA吸着抗体-NCS複合化合物投与群では、非常に高い効果が認められ、50日間の観察でも5匹中3匹が生存しており、うち2匹は腫瘍の形成が全く認められなかった。本発明HA担体に薬剤を吸着させ投与した場合と薬剤を単独で投与した場合に、前者においてよ

り微量で有効性が高かったことは、薬剤がより効果的に目的部位に到達したか、あるいは、薬剤の徐放による有効性の持続が考えられる。本発明HA担体に吸着させることにより、有効量以上の薬剤による副作用を抑制する可能性も示された。

## 【0056】

【発明の効果】本発明の担体は、HA微粒子が凝集することなく分散安定性が良好であるため、血管閉塞などの副作用がない。また、生理活性物質の吸着能も高いの



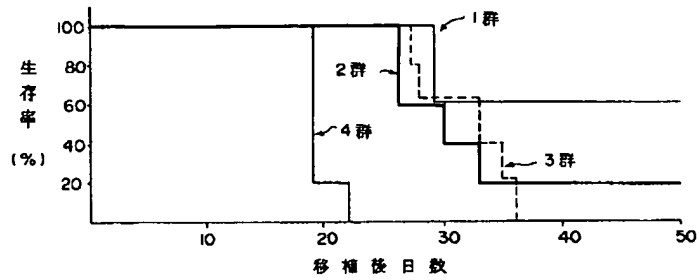
で、当該担体に生理活性物質を吸着させれば、有効性及び安全性の高い注射用医薬が得られる。

【図面の簡単な説明】

\*【図1】 NCS吸着HA微粒子の抗腫瘍効果（生存数）を示す図である。

\*

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 佐久間 貞俊  
神奈川県小田原市成田540番地 明治乳業  
細胞工学センター内

(72)発明者 伊藤 裕之  
神奈川県小田原市成田540番地 明治乳業  
ヘルスサイエンス研究所内